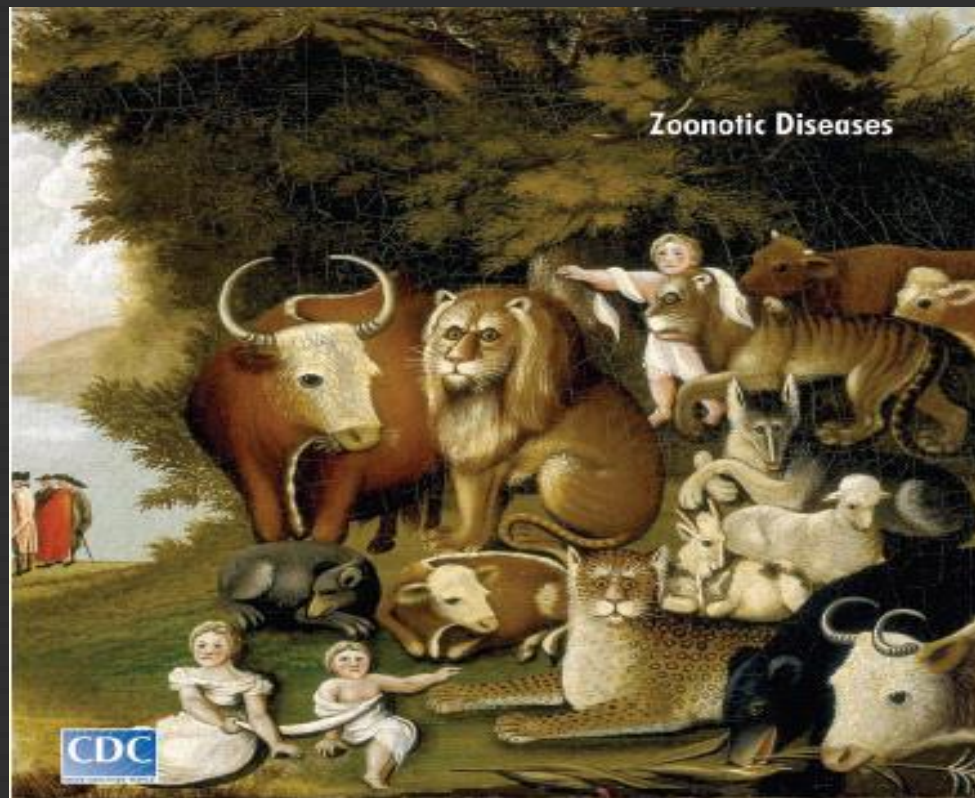


Βρουκέλλες



Εισαγωγή

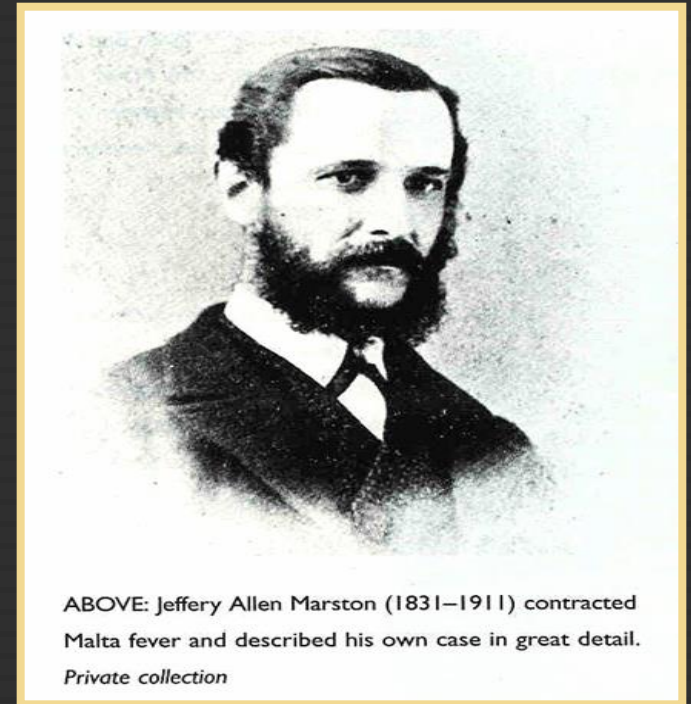
- Βρουκέλλωση
 - Νόσος των οικόσιτων και άγριων ζώων
 - Ζωνόσος
- Μεταδίδεται στον άνθρωπο
- Εμφανίζεται με ποικίλλα και μη ειδικά συμπτώματα

“No disease, not excepting tuberculosis and syphilis, is more protean in its manifestations”..(Simpson).

πανιθεσταιονς,“(σιμπσον).

Ιστορικά στοιχεία

- **J.A. Maraston (1860)**; Χειρουργός του Βρετανικού στρατού στη Μάλτα –περιγράφει τη νόσο “**Mediterranean Gastric Remittent Fever**”



Ιστορικά στοιχεία

- **David Bruce (1887)**: Απομονώνει το βακτήριο “*micrococcus melitensis*” από το σπλήνα 4 στρατιωτών που πέθαναν από τη νόσο

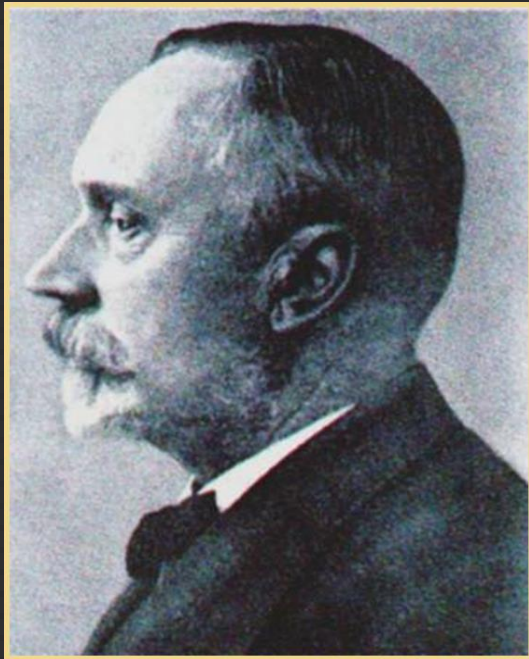


Sir David Bruce (1855–1931)



Ιστορικά στοιχεία

- **E. Bang (1897);** Δανός κτηνίατρος
 - περιγράφει ενδοκυττάριο βακτήριο που προκαλεί αποβολές στις αγελάδες και το ονομάζει “*Bacillus abortus*”.



Ιστορικά στοιχεία

- **A.E. Wright (1897)**; Παθολόγος στο Βρετανικό στρατό – ανακαλύπτει test συγκολλητινοαντίδρασης για διάγνωση
- **Zammit 1905**; Μαλτέζος παθολόγος
- Τα αιγοπρόβατα είναι η πηγή της λοίμωξης



Ιστορικά στοιχεία

- **A. Evans(1918):** Αμερικανίδα μικροβιολόγος
-συσχετίζει τον *Bacillus abortus* με το *micrococcus melitensis*
- **Meyer and Shaw (1920): BRUCELLA**

Alice Evans
(1881- 1975)



Ιστορικά στοιχεία

- Mohler (1914) απομονώνει ένα μικροοργανισμό από το σπλήνα των χοίρων -*B.suis*.
- *B. neotome* (1957)
- *B. ovis* (1963)
- *B. canis* (1966)



Ιστορικά στοιχεία

- Το 1994, Αμερικανοί και Βρετανοί ερευνητές, απομονώνουν ανεξάρτητα, μικροοργανισμούς από θαλάσσια θηλαστικά – φάλαινες και δελφίνια, και τον ονομαζουν *Brucella maris*.



Κατάταξη

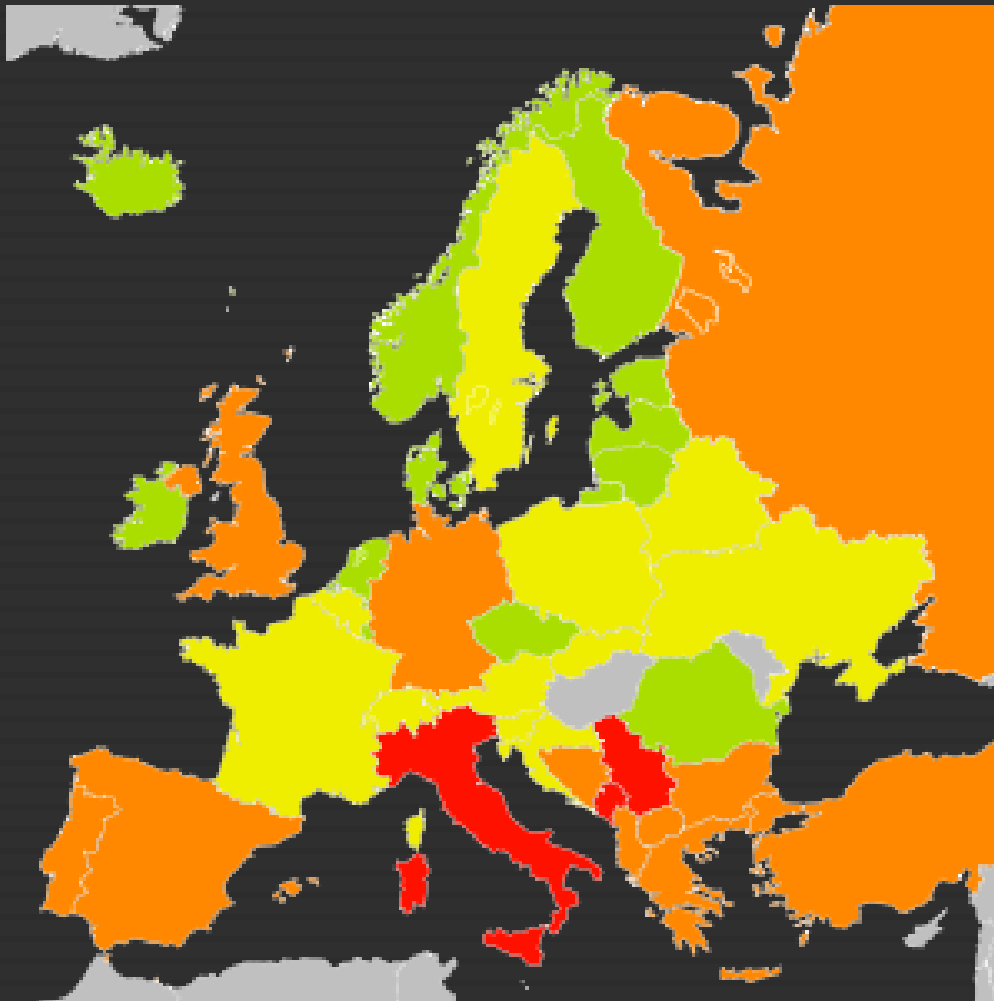
□ Γένος: **Brucella**

□ Είδη:

- 1. *B. melitensis*
- 2. *B. abortus*
- 3. *B. suis*
- 4. *B. neotomae*
- 5. *B. ovis*
- 6. *B. canis*
-

Οι τρεις πρώτες + *B. canis* παθογόνες στον άνθρωπο

Βρουκέλλωση



never reported

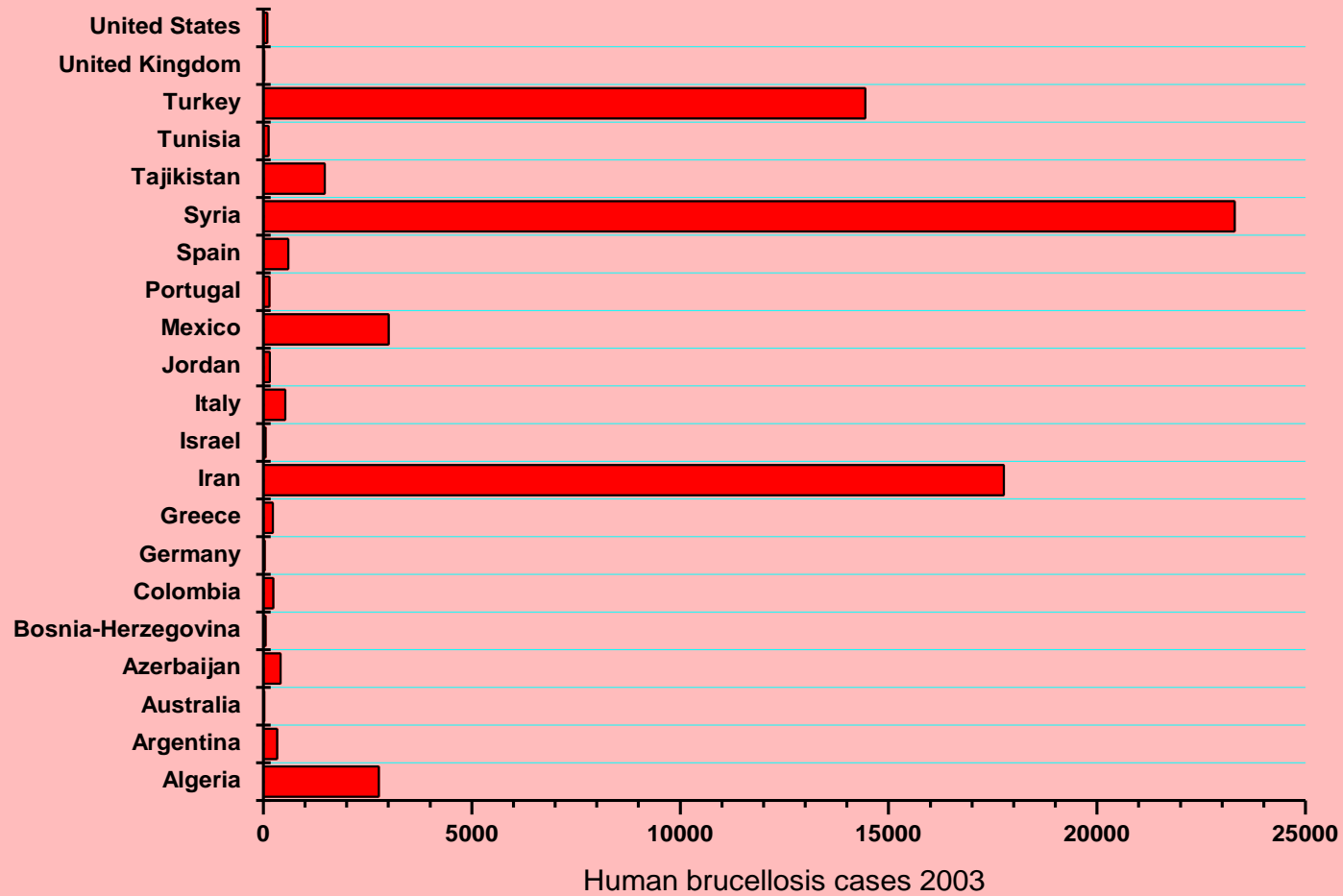
not reported in this period

confirmed clinical disease

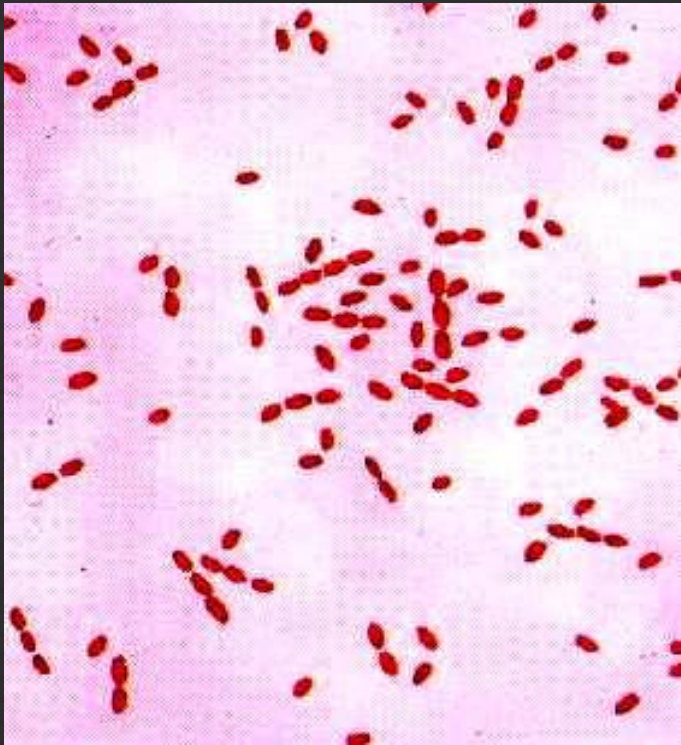
confirmed infection

no information

Βρουκέλλωση



Χαρακτηριστικές ιδιότητες



**Μικρά (0,5-1,5 μ), ακίνητα, μη
ελυτροφόρα, gram-αρνητικά
κοκκοβακτηρίδια**

**Αποκλειστικά αερόβια, αλλά μερικά
απαιτούν την παρουσία CO₂**

Δεν ζυμώνουν σάκχαρα

Χαρακτηριστικές ιδιότητες

- καλλιέργεια σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά (Trypticase soy άγαρ ή ζωμός)
 - όχι αιμόλυση σε αιματούχο άγαρ
 - παράγουν καταλάση και οξειδάση
 - υδρολύουν την ουρία
 - δε διασπούν τα σάκχαρα

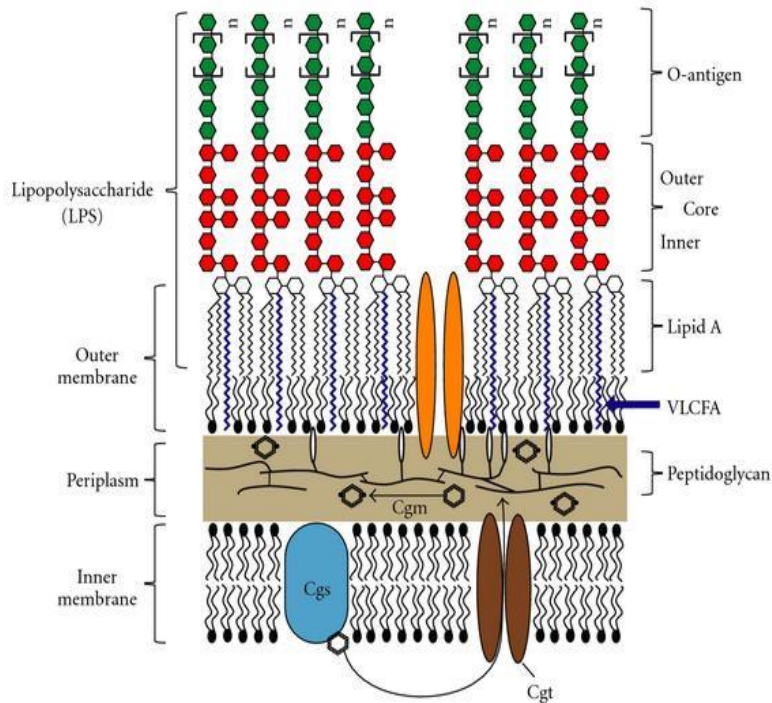
Διάκριση παθογόνων βρουκελλών

- απαίτηση για CO_2
- ανάπτυξη σε θρεπτικό υλικό με χρωστική θειονίνη και βασική φουξίνη
- παραγωγή H_2S
- παραγωγή ουρεάσης
- χρονικό διάστημα για υδρόλυση ουρίας

Λοιμογόνοι παράγοντες

- Δεν παράγει κλασσικούς λοιμογόνους παράγοντες, όπως εξωτοξίνες
- Ο LPS **δεν ασκεί** τυπική δράση **ενδοτοξίνης**
 - Διαδραματίζει όμως βασικό ρόλο στην παθογένεια
- **Επιβιώνει ενδοκυττάρια** και αναστέλλει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο

Λοιμογόνοι παράγοντες



- Cyclic-β-glucan
- ◊ Cyclic-β-glucan modified with succinyl residues

- Smooth LPS (S-LPS)
 - ◻ LPS με O- αντιγόνο
 - *B. melitensis*
 - *B. suis*
 - *B. Abortus*
 - ◻ LPS χωρίς O- αντιγόνο
 - *B. canis*
 - *B. ovis*

Λοιμογόνοι παράγοντες

- **Λιπίδιο A** : αναγνωρίζεται από τη φυσική ανοσία (TLR4) αλλά δεν επάγει την παραγωγή κυτταροκινών και αντιμικροβιακών πεπτιδίων
 - Εκατοντάδες φορές λιγότερο ικανός να επάγει τη φυσική ανοσία σε σχέση με την *E.coli*
 - Διαφυγή ανοσολογικού και εμφάνιση χρόνιων ενδοκυττάρων λοιμώξεων

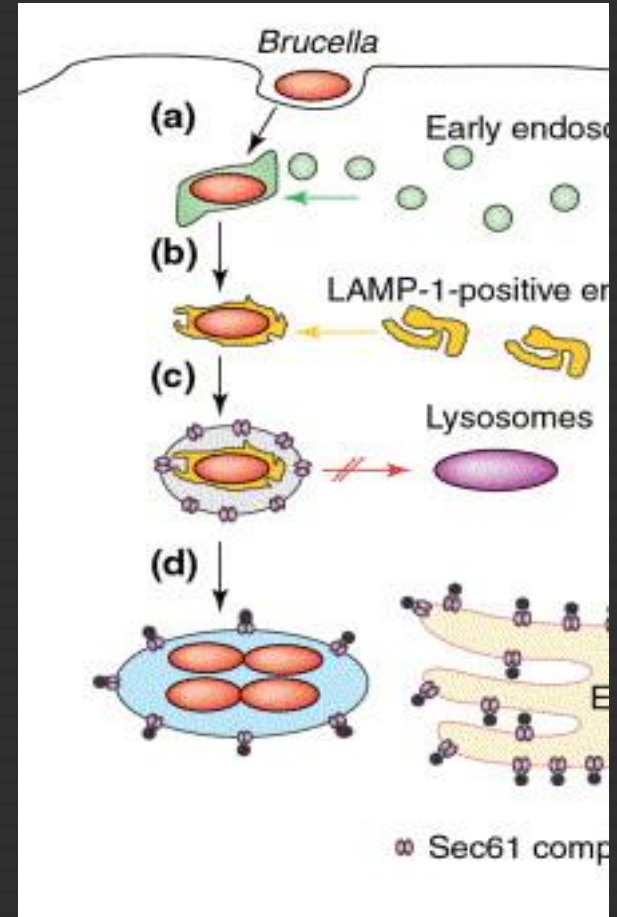
Λοιμογόνοι παράγοντες

- **O-ag** : Συνδέεται με τα μόρια **MHCII** με τρόπο που να προλαμβάνεται η σηματοδότηση και η ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων
 - Το σωματικό αντιγόνο O του LPS διασπάται φτωχά από τα μακροφάγα και σχηματίζει συμπλέγματα με στοιχεία των μορίων MHCII των φαγοκυττάρων και παρεμβαίνουν στην ικανότητα παρουσίασης των αντιγόνων
- Σημαντικός λοιμογόνος παράγοντας γιατί προλαμβάνει την έναρξη της επίκτητης ανοσολογικής απόκρισης

Λοιμογόνοι παράγοντες

Στελέχη με *S-LPS* εισέρχονται στο κύτταρο μέσω λιπιδικών rafts, αποκτούν λιπιδικούς markers οι οποίοι προστατεύουν από το σχηματισμό του φαγολυσσοσώματος

Στελέχη με *R-LPS*, εισέρχονται στο κύτταρο με φαγοκυττάρωση και δεν αποτρέπεται ο σχηματισμός του φαγολυσσοσώματος



Λοιμογόνοι παράγοντες

Κλασσικός LPS	Μη κλασσικός LPS
Υψηλή τοξικότητα ενδοτοξίνης	Χαμηλή τοξικότητα της ενδοτοξίνης
Υψηλή πυρετογόνο δράση	Χαμηλή πυρετογόνο δράση
Γρήγορη επαγωγή TNF και INF	Αργή επαγωγή TNF και INF
Ενεργοποίηση C	Μη ενεργοποίηση C

Αντιγονική δομή

- Δύο κύρια αντιγόνα : **A και M**
 - ▣ Συμπλέγματα πρωτεϊνών και λιποπολυσακχαρίτη
- Τα τρία είδη διαφέρουν στην ποσότητα έκφρασης των δύο αντιγόνων :
 - ▣ ***B. abortus* : A:M=20:1**
 - ▣ ***B. melitensis* : A:M=1:20**
 - ▣ ***B. suis* : A:M=2:1**

Αντισωματική απόκριση

- Η λοίμωξη του ανθρώπου ή των ζώων με ένα είδος βρουκέλλας προκαλεί την εμφάνιση αντισωμάτων (συγκολλητίνες) τα οποία προκαλούν συγκόλληση και των τριών ειδών
 - Η ***B. canis*** δεν έχει αντιγόνα **M** και **A**
- Συγκολλητινοαντίδραση (Wright):
 - Πληροφορεί για την ύπαρξη βρουκελλώσεως και όχι για το είδος της βρουκέλλας

Αντισωματική απόκριση

- Τα αντισώματα είναι της τάξης IgM, IgG, IgA
 - Έναντι του LPS
- **IgM:1η εβδομάδα**
 - Παραμένουν σε υψηλά επίπεδα πάνω από 6 μήνες (περισσότερο από τα IgG)
- **IgG:2^η εβδομάδα**
 - Μέγιστος τίτλος την 4^η εβδομάδα
- Αντιβιοτική αγωγή συνοδεύεται **από πτώση** των IgM, IgG
- Παραμονή IgG και IgA > 6 μήνες: χρόνια νόσος

Παθογένεια

- *B. melitensis* και *B. suis*, πιο λοιμογόνες

- Η νόσος καθορίζεται από:

- Ανοσολογική κατάσταση του ξενιστή

- Μέγεθος ενοφθαλμίσματος

- Οδός λοίμωξης

Εχ: -Χαμηλή γαστρική οξύτητα πιο αποτελεσματική στην πρόληψη της λοίμωξης με *B.abortus* σε σχέση με την *B. melitensis*

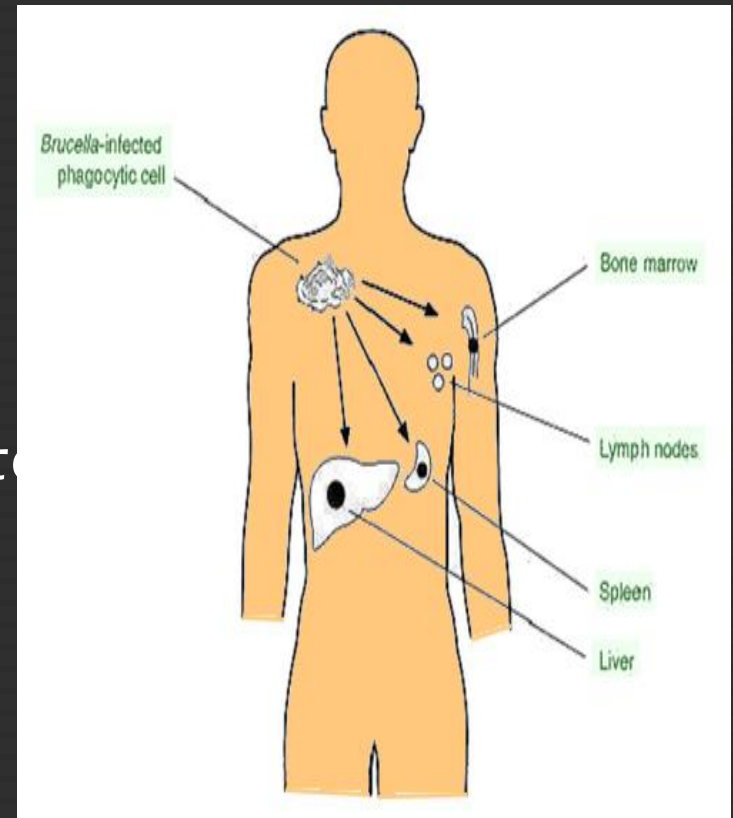
Φάρμακα που μειώνουν τη γαστρική οξύτητα διευκολύνουν την τροφογενή λοίμωξη με βρουκέλλα

Παθογένεια

- Είσοδος βρουκελλών → Συσσώρευση ουδετεροφίλων
 - Φυσιολογικά ο ορός έχει μειωμένη βακτηριοκτόνο δράση έναντι της βρουκέλλας
- **Φαγοκυττάρωση** από PMN – Leukocytes
- ***Brucellae***: Προαιρετικά ενδοκυττάρια, βραδέως πολλαπλασιαζόμενα παθογόνα με ικανότητα ενδοκυττάριας επιβίωσης στα φαγοκύτταρα

Παθογένεια

- Ακολουθεί αιματογενής διασπορά και εντόπιση του βακτηρίου σε όργανα πλούσια σε κύτταρα ΔΕΣ, όπως
 - λεμφαδένες
 - σπλήνας
 - ήπαρ
 - μυελός των οστών
- Η λοίμωξη μοιάζει με τ



Παθογένεια

- Οι βρουκέλλες σχηματίζουν κοκκιώματα στα όργανα στόχους
 - Τα **κοκκιώματα** αποτελούνται από επιθηλιοειδή κύτταρα, PMNLs, λεμφοκύτταρα και γιγαντοκύτταρα
 - Τα κοκκιώματα είναι μικρά
- Η νέκρωση δεν είναι συχνή και δεν σχηματίζονται αποστήματα εκτός από λοίμωξη με *B. suis*
- Πολλά από τα συμπτώματα της νόσου οφείλονται στην αντίδραση του ξενιστή

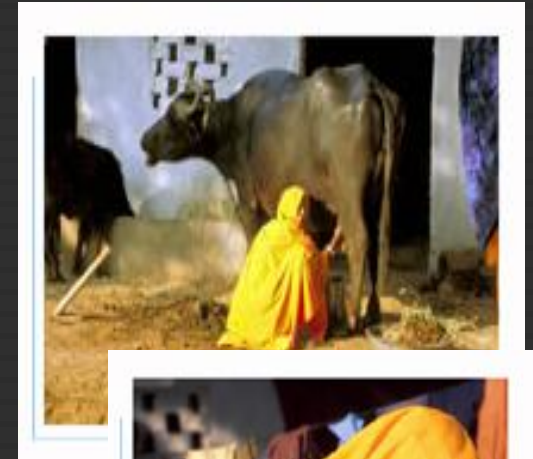
Παθογένεια

- Η παρουσία της ερυθριτόλης στους όρχεις και στον πλακούντα των ζώων ενεργοποιεί ταχύτατο πολλαπλασιασμό των βρουκελλών
- Η ερυθριτόλη δεν υπάρχει στον άνθρωπο

Πύλη εισόδου του μικροβίου

- Από το στόμα – η πιο συχνή οδός

- Κατανάλωση μολυσμένων ζωικών προϊόντων (γάλα και παράγωγα αυτού)
- Επαφή με μολυσμένα χέρια



- Σταγονίδια

- Εισπνοή του βακτηρίου
- Μόλυνση από τον επιπεφυκότα



- Λύση συνεχείας του δέρματος

Πύλη εισόδου του μικροβίου

- Το βακτήριο αποβάλλεται με τις γεννητικές εκκρίσεις (και σπέρμα), γάλα.
- Χρόνος επιβίωσης:
 - Τυρί στους 4°C : 180 μέρες !!!
 - Βούτυρο : 11 μέρες
 - Νερό στους 25°C : 50 μέρες
 - Κρέας : 65 μέρες
 - Κόπρανα ζώων : 120 μέρες

Καταστρέφεται με την παστερίωση

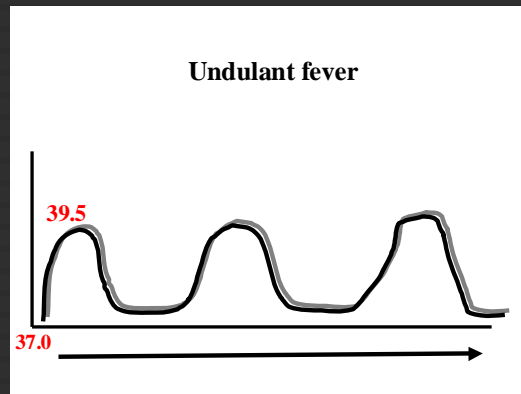
Λοιμώξεις

- Βρουκελλώσεις
- - Στα ζώα: επιδημίες με αυτόματες εκτρώσεις
 - Στον άνθρωπο μεταδίδεται από τα ζώα
Ζωνόσος

Cyprus fever/Gibraltar fever/Malta fever/Rock fever/Undulant fever

Βρουκέλλωση από *B. melitensis*

□ Μελιταίος ή κυματοειδής πυρετός



- Μεγάλος χρόνος επώασης (εβδομάδες - μήνες)
- Μικρή θνητότητα (από προσβολή βαλβίδων)

Ασυμπτωματική βρουκέλλωση

- Υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων, χωρίς συμπτώματα
 - άτομα που έρχονται σε επαφή με τα ζώα



Οξεία βρουκέλλωση

- **Επαγγελματική νόσος**
- **Χρόνος επώασης : 7 - 21 ημέρες**
- - **κακουχία, ρίγη, εφιδρώσεις, ↑ θ απόγευμα ή βράδυ**
 - **πονοκέφαλος, άλγη στην πλάτη, ανορεξία (67%)**
 - **απώλεια βάρους (50%), αρθραλγίες**

Οξεία βρουκέλλωση

- αθυμία, απάθεια, σύγχυση, αϋπνία
- διόγκωση λεμφαδένων (14%), σπληνομεγαλία (10-20%), ηπατομεγαλία (5%)
- ευαισθησία στους όρχεις, οξεία επιδιδυμίτιδα

Οξεία βρουκέλλωση

- Αιματολογικές διαταραχές
 - ▣ Λευκοπενία (ήπια) με λεμφοκυττάρωση
 - ▣ Ήπια αναιμία και θρομβοπενία
 - ▣ Πανκυτταροπενία
 - Υπερσπληνισμός
 - Καταστολή μυελού των οστών
 - Ανοσολογική καταστροφή των κυττάρων

□ Υποτροπιάζουσα βρουκέλλωση

- 10% μέσα στον 1^ο χρόνο

- Συνήθως οφείλεται σε διακοπή της θεραπείας
- Έχει περιγραφεί σε κτηνιάτρους

□ Παιδική βρουκέλλωση

- Καλύτερη πρόγνωση ως προς τη συχνότητα και τη σοβαρότητα των επιπλοκών και τη θεραπεία

- Δεν είναι ευκαιριακή λοίμωξη των ασθενών με HIV

Χρόνια βρουκέλλωση- Depression

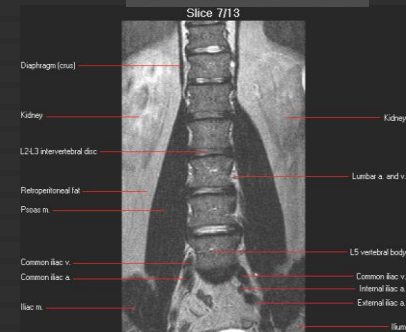


Εντοπισμένη βρουκέλλωση

- Σε οποιοδήποτε όργανο, κυρίως στις γυναίκες
 - πυρετός (30%), εφιδρώσεις, αδυναμία,
 - απώλεια βάρους (10 - 15%)
 - μικρή ή καθόλου αύξηση τίτλου αντισωμάτων
- διάγνωση με βιοψία ή καλλιέργεια

Εντοπισμένη βρουκέλλωση

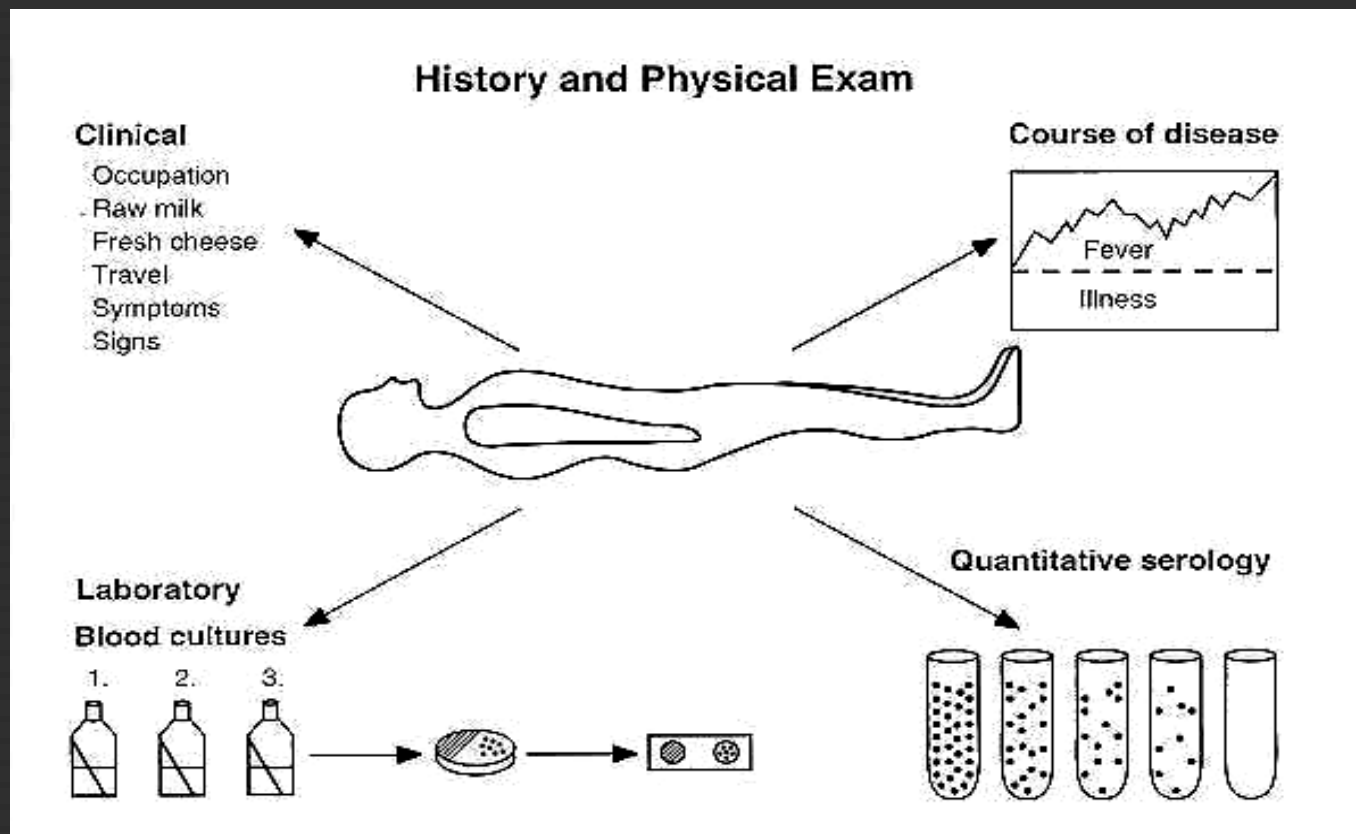
- **Αρθρίτιδα** (10% των περιπτώσεων) (HLA –B39)
 - Ιερολαγωνίτιδα
 - Περιφερική αρθρίτιδα
 - Σπονδυλίτιδα
- **Προσβολή του ΚΝΣ** (περίπου 5-7 %)
 - Μηνιγγίτιδα
 - Εγκεφαλίτιδα
 - Αποστήματα
 - Απομυελινωτικό σύνδρομο



Εντοπισμένη βρουκέλλωση

- Επιδιδυμίτιδα, ορχίτιδα
- Ενδοκαρδίτιδα σπάνια
 - Αορτική βαλβίδα, χειρουργική αντικατάσταση
- **Ηπατίτιδα**
- **Πνευμονική εντόπιση**
- Σε αντίθεση με τα ζώα, στον άνθρωπο δεν παρατηρούνται αποβολές

Διάγνωση



Εργαστηριακή διάγνωση

- Καλλιέργεια αίματος
 - Θετικές καλλιέργειες :15-70%
- Παρακέντηση μυελού οστών
 - gold standard
 - Υψηλή συγκέντρωση
 - Μη παρουσία στον μυελό σχετίζεται με εκρίζωση της λοίμωξης
- Σπάνια από ΕΝΥ, πλευριτικό υγρό, περιτοναϊό υγρό, ούρα

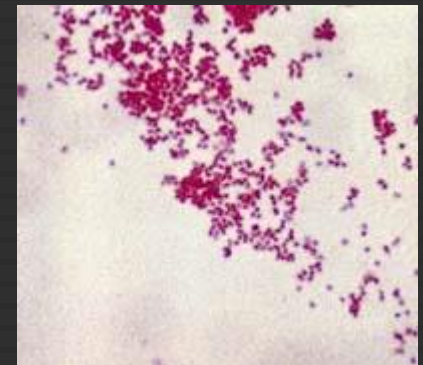
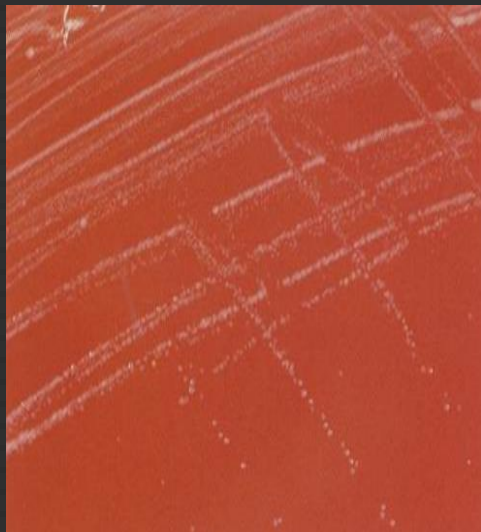
Εργαστηριακή διάγνωση

- Τοποθέτηση φιάλης αιματοκαλλιέργειας στους 37° C και ατμόσφαιρα CO₂ 10%
- Επώαση για 4 εβδομάδες



Εργαστηριακή διάγνωση

- Παρασκευάσματα από αποικίες και χρώση Gram
- Κατάταξη στελέχους σε είδος με βάση τις βιοχημικές δοκιμασίες



Εργαστηριακή διάγνωση

	Υδρόλυση ουρίας	Παραγωγή υδροθείου	Ανάπτυξη σε υλικό με φουξίνη	Ανάπτυξη σε υλικό με θειονίνη
<i>B. melitensis</i>	βραδέως ή -	-	+	+
<i>B. abortus</i>	1-2 ώρες	+	+	-
<i>B. suis</i>	0-30 min	+	-	+
<i>B. canis</i>	0-30 min	-	-	+

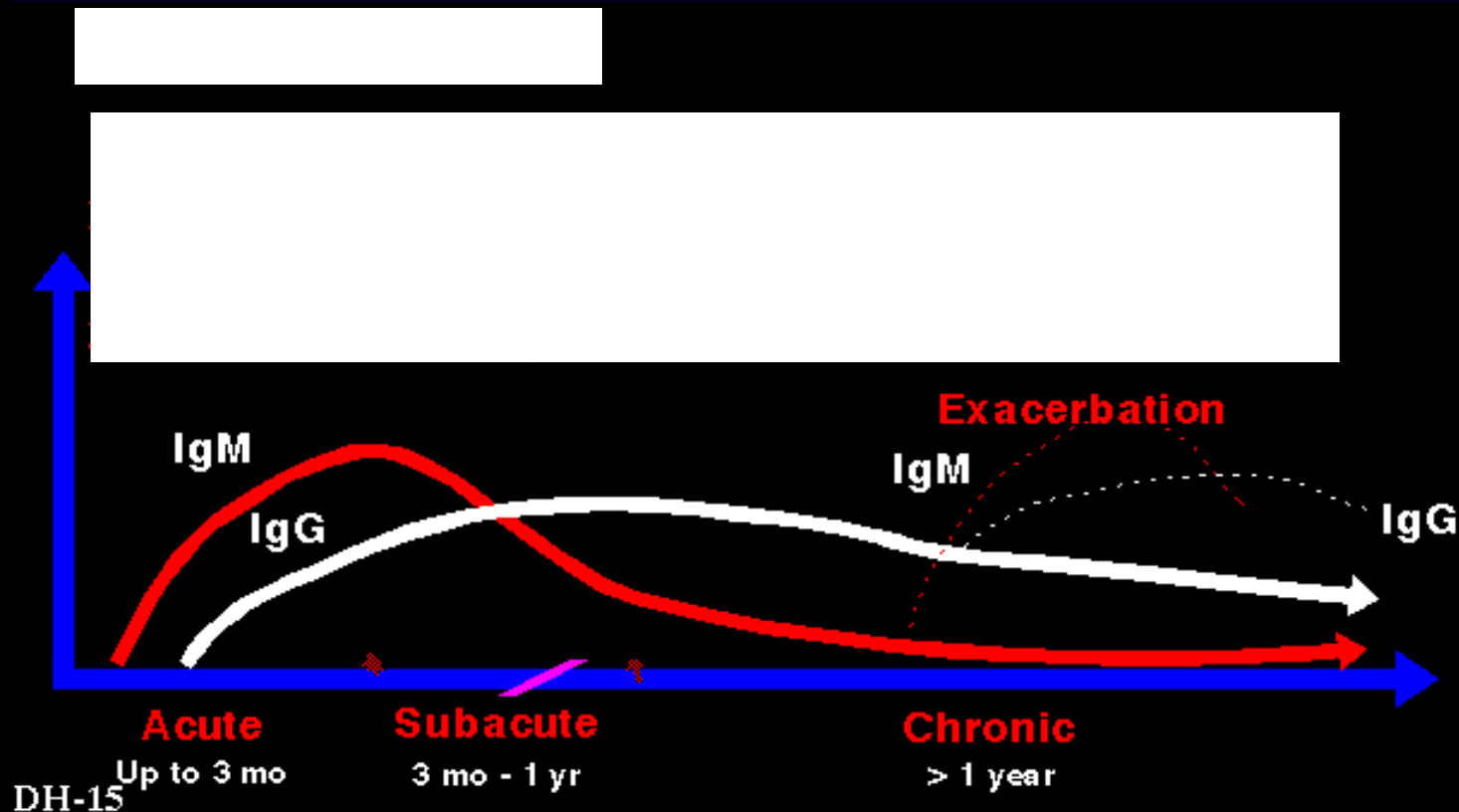
Εργαστηριακή διάγνωση

- Υδρόλυση ουρίας



Ορολογική διάγνωση βρουκέλλωσης

DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS SEROLOGIC TESTS



Ορολογική διάγνωση βρουκέλλωσης

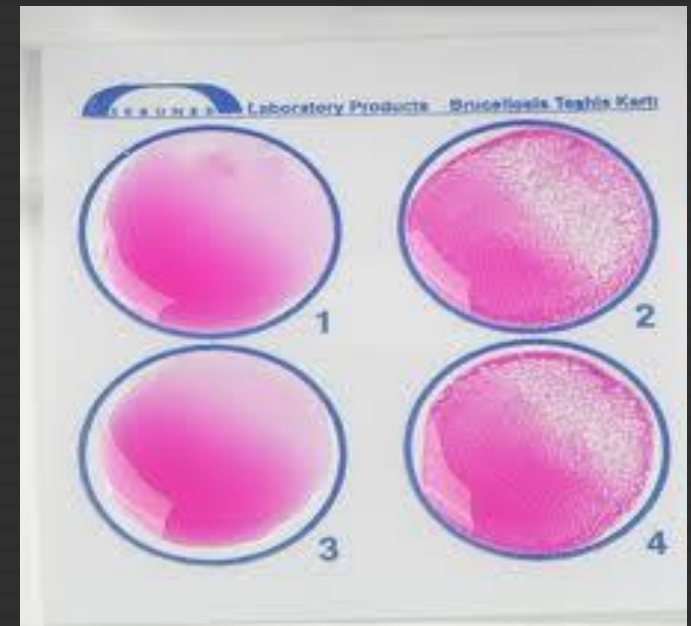
- Συγκολλητινοαντίδραση **Wright**
- Αντιγόνο: **νεκρωμένο στέλεχος *B. abortus* 1119**
- Δεν ανιχνεύονται αντισώματα από λοίμωξη με ***B. canis*** (δε φέρει αντιγόνα A και M)

Ορολογική διάγνωση βρουκέλλωσης

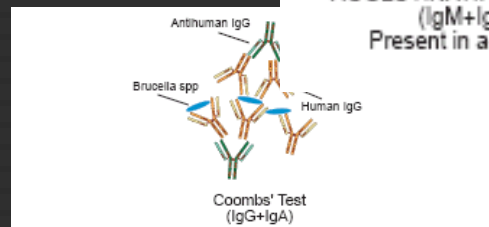
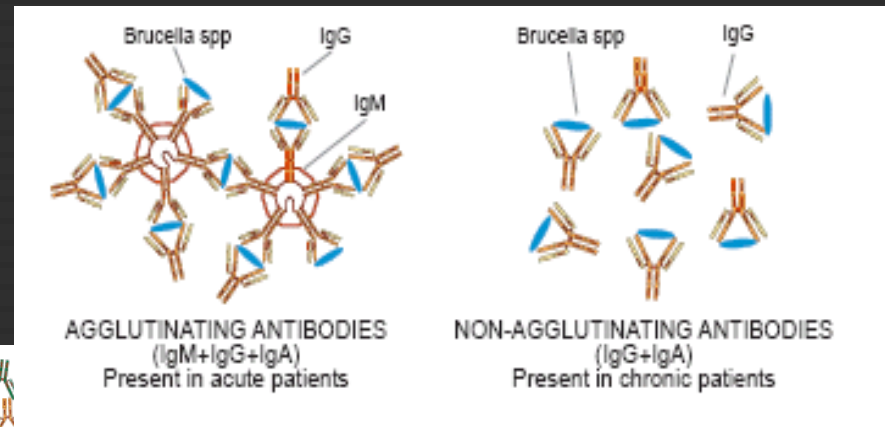
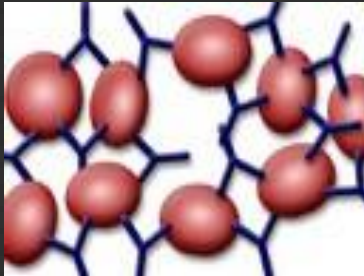
Standard tube Agglutination test (SAT)

Card test agglutination

Rose Bengal card test



Ορολογική διάγνωση



Ατελή αντισώματα- Φαινόμενο προζώνης

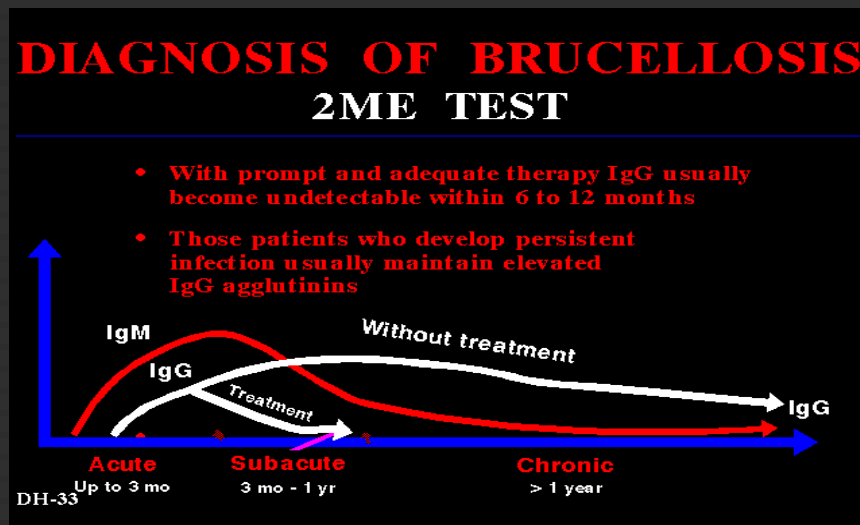
Αραιώσεις του ορού
Coombs test

Coombs test

Ορολογική διάγνωση

2-Mercaptoethanol test (2ME)

- Το STA προσδιορίζει IgG και IgM αντισώματα
- Προσθήκη **2ME οδηγεί σε διάσπαση των δισουλφιδικών δεσμών της IgM** και έτσι ανιχνεύονται μόνο IgG αντισώματα



Ορολογική διάγνωση

- Τίτλος αντισωμάτων:
 - **1/160** ή μεγαλύτερος: ενδεικτικός ενεργού λοιμώξεως (όχι σε άτομα που έρχονται σε επαφή)
 - **1/80**: παλαιά λοίμωξη ή πιθανή ενεργός λοίμωξη
- Οξεία βρουκέλλωση: **1/640 - 1/5120**
- Μετά από θεραπεία: **1/160** σε ένα χρόνο
 - Πολύ συχνή η παρουσία ατελών αντισωμάτων IgG ή IgA
 - Φαινόμενα **προζώνης**

Standard tube agglutination test

False positive results

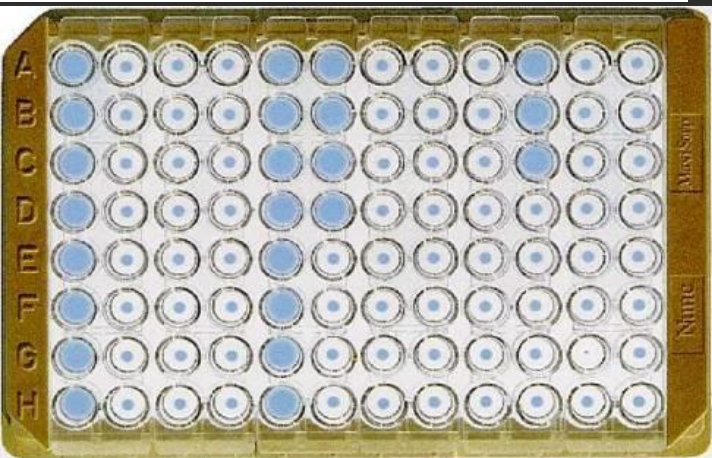
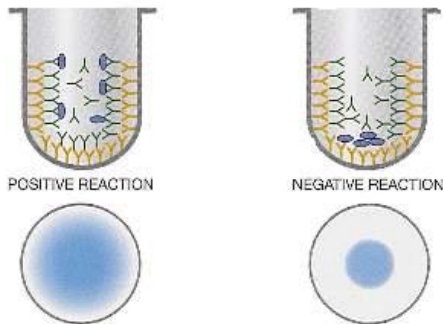
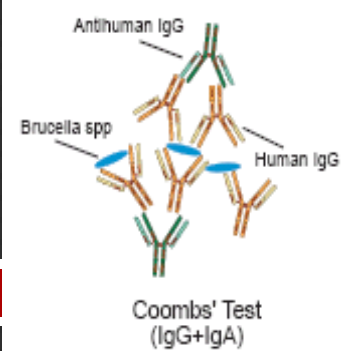
- *F. tularensis*
- *Y. enterocolitica*
- *V. cholera*
- *Salmonella*
- *Stenotrophomonas maltophila*
- *E. coli* O157

Standard tube agglutination test

False negative results

- Αγαμασφαιριναιμία
- Πρώτη εβδομάδα της λοίμωξης
- Λοίμωξη με **B.canis**
- Χρόνια βρουκέλλωση
- Φαινόμενο προζώνης

Brucellacapt®



- Βασίζεται στην αντίδραση Coomb's
- Ανιχνεύει τα agglutinating and non agglutinating antibodies (IgG and IgA)
 - Επικάλυψη των wells με anti-human immunoglobulins.
 - Προσθήκη του ορού
 - Προσθήκη του αντιγόνου
 - Επάση για 24 ώρες

□ Ενδείξεις

- Χρόνια βρουκέλλωση
- Υποτροπές
- Επαναμολύνσεις

Ορολογική διάγνωση

- Elisa
 - Κυτταροπλασματικές πρωτεϊνες σαν αντιγόνα
 - Προσδιορίζει IgG, IgM, IgA
 - Διαγνωστική αξία στη νευροβρουκέλλωση
- PCR
 - Θετικοποίηση σε 10 μέρες
 - Διασταυρούμενη αντίδραση με ochrobactrum
- Real-time PCR



Θεραπεία

- Τετρακυκλίνη (ενδοκυττάρια δράση) για 6 εβδομάδες
+
- Στρεπτομυκίνη για 2 εβδομάδες

- Δοξυκυκλίνη
+
- Ριφαμπικίνη για 6 εβδομάδες

Brucellosis Treatment

Streptomycine+
Tetracycline

```
graph TD; A[Streptomycine+ Tetracycline] --- B[Streptomycine+ doxycycline]; A --- C[Bactrime+ Rifadine]; A --- D[gentamycine+ tetracycline];
```

Streptomycine+
doxycycline

Bactrime+
Rifadine

gentamycine+
tetracycline

Προφύλαξη

- Θανάτωση των πασχόντων ζώων
- Εμβολιασμός των ζώων
 - Ζωντανό, εξασθενημένο στέλεχος 19 της *B.abortus*
 - Ζωντανό, εξασθενημένο στέλεχος *B.melitensis* Rev.1

